

# 結核免疫に関する研究

## 第 19 報

### 結核菌々体浸出液の免疫学的研究

#### 第5編 浸出液の学童における皮膚反応原性について

金沢大学結核研究所細菌免疫部（主任：柿下正道教授）

山 本 純 夫

（受付：昭和34年8月1日）

#### 緒 言

先に<sup>1)2)</sup>結核菌の加熱浸出液の免疫学的性状を明らかにする目的で、ヒト型結核菌青山B株より作製した蒸留水浸出液（以下Pと略記）を用いて、ヒト型結核菌青山B株死菌流パラワクチンをもって免疫したウサギに皮膚反応を行った結果、Pが特異的皮膚反応惹起力を保有し、紅斑惹起能力は旧ツベルクリン（以下OTと記載）のおおよそ $\frac{1}{10}$ であることを確認した。なおこのヒト型菌のPとBCGより同様にし

て作った浸出液との併用によっては、教室同人の提唱するOA-Azo-T“Human”およびOA-Azo-T“BCG”の併用による成績と異なり、ヒト型結核菌接種とBCG接種との鑑別は不可能であったが、今回は更に人体についてPの皮膚反応原性を見る目的で、学童を対象としてこれにPとOTを併用し両者を比較検討した。以下にその成績の概要を記述する。

#### 実験材料ならびに実験方法

1) P：ヒト型結核菌青山B株より本報の第2編<sup>2)</sup>に述べたごとくにしてPを作成し、後記のごとく希釈して用いた。その化学的性状および実験動物に対する反応原性は第1編<sup>1)</sup>に記載した。

2) OT：北研製診断用ツベルクリン 2,000倍希釈液(Lot No.257)を使用した。

3) 被検学童：岐阜県下一山村の小中学校の学童で、既往症、現症、家族歴、BCG接種歴ならびに胸部レ線所見の明らかな者 203名を選んだ。

4) 皮膚反応術式：学童を次の3組の集団にわけて実施した。

集団Ⅰ 1：2,000 OTと1：200 P各0.1mlあて注射；69名。

集団Ⅱ 1：2,000 OTと1：500 P各0.1mlあて注射；70名。

集団Ⅲ 1：2,000 OTと1：1,000 P各0.1mlあて注射；64名。

反応の術式は Mantoux 氏法に準じ、PおよびOTの希釈液を後述の理由により背部の左右肩胛骨下端を結ぶ線上で背柱より左右それぞれ5cmの皮内に、各集団を切半してPとOTの注射部位をとりかえて接種した。判定は24時間、48時間および72時間に型のごとく

紅斑径および硬結を測定し、紅斑値はmmで、硬結は確実に触知できるものを+、触れないものを-、疑わ

しいものを±で表わし、なお水泡形成、壊死、出血果の有無などをも観察した。

実験成績

1) PとOTの紅斑惹起力の比較

前記の3集団について、OTとPの紅斑惹起力の相関々係を検討したものを第1表に示した。これによるといずれの集団および判定時間においてもOTとPの反応原性は1%以下の危険率で有意の正相関を示した。またPおよびOTによる紅斑の平均値ならびにPのOTに対するRatioを集団別、判定時間別に第2表に示した。

ここで各集団のOTによる紅斑値の母分散が同一であり、平均値の間に差の有意性がないことを確かめた後、各集団についてOTとPの紅斑惹起力を比較した。すなわち紅斑惹起力においては1%以下の危険率でOT1:2,000とP1:200は等力価と考えられ、

OT1:2,000=P1:200>P1:500>P1:1,000の関係が認められ、第2表のRatioの面からもOT1:2,000とP1:200はほぼ等力価とみなし得る。

2) Pの量的差異による紅斑値の経時的変動について

Pの1:200, 1:500および1:1,000による紅斑値の経時的推移にそれぞれ特異性があるかいかを知るために、判定時間とP接種量について二元配置分散分析によって検定を行った。P接種量別、判定時間別の紅斑平均値を100倍して800を減ずる変数変換の後算出した要因量は下記のごとく分析される。

変 因	分散平方和 (S.S.)	自由度 (d.f.)	分散不偏推 定量(m.S.)	F
全 分 散	437,761.6	8		
判定時間	15,434.9	2	7,717.5	** 89.74
P接種量	421,982.9	2	210,991.5	** 2,453.39
誤 差 項	343.8	4	86.0	

\*\* : 1%以下の危険率において有意義の差のあることを示す、

このことより判定時間およびP接種量の差異はともにPによる紅斑値に影響を与える主要な因子であることを認めた。すなわち第2表に示すPの紅斑値はP接種量の差異により明らかな差を有するとともに、経時的にいずれの濃度のPによる紅斑値も48時間値>72時間値>24時間値なる関係を示すことがPの特異性と考えられる。これに反し北研OTによる紅斑値では前述のごとく、24時間値、48時間値および72時間値の間に有意の差を認め得なかった。

次にP接種量の差異による紅斑値の変動とP接種量との間に相関が成立するかいなかを48時間値について検討した。横軸(x方向)にP1:500を基準にP接種量の対数値を、縦軸(y方向)にその紅斑値をとり、この両要因について相関係数および回帰係数の有意性を検し回帰方程式を求めた。相関係数をr、その標準偏差をsrとすれば

$$r=0.433 \quad s_r=0.057 \quad \therefore \left| \frac{r}{s_r} \right| = 7.6 > 2.6$$

となり $r > 0$ であることよりP接種量の対数値と紅斑値は1%以下の危険率において正の相関々係にあり、またx方向についての回帰数をb、その標準偏差をsbとすれば

$$b=7.410 \quad s_b=0.975 \quad \therefore \left| \frac{b}{s_b} \right| = 7.6 > 2.6$$

となり回帰方程式は

$$y=7.41 \ x+8.49$$

で示される。すなわちP接種量の対数値とPによる紅斑値の間には1%以下の危険率で一次回帰が成立し、P接種量の1:200 0.1mlから1:1,000 0.1mlの間ではその等比級数的増加あるいは減少は紅斑値の等差級数的増大あるいは減少をもたらすことを知った。

3) Pによる硬結形成について

紅斑値より硬結値の大なるものは見出され

ず、局所の硬結惹起状況をPとOTについて集団別に比較すると第3表のごとくである。すなわち集団ⅠではPによる硬結を認めたもの38例(55.1%)、OTによるものは28例(40.6%)で、PとOTとで硬結形成状態の一致するもの57例(82.6%)、 $P > OT$ が12例(17.4%)で $OT > P$ のものはなかった。この集団ⅠではPとOTの紅斑惹起力が等しいことを勘案すれば、一見PはOTよりも硬結惹起力が非常に高いように思われたのでこれを吟味した。 $\chi^2$ 法により、±は硬結を惹起した方に入れ、硬結の有るものと全く認められないものに分けて、集団Ⅰの硬結出現の度数を比較した。分割表は以下のようになりこれより $\chi^2$ を算出すると

硬結 ツの種類	あり	なし	計
P	38	31	69
OT	28	41	69
計	66	72	138

$$\chi^2 = \frac{(38 \times 41 - 31 \times 28)^2 \times 138}{66 \times 72 \times 69^2} = 2.9$$

得られた2.9に対する有意水準を両側仮説をとって $\chi^2$ 表より求めると約9%となり、紅斑惹起力において等力価のOTとPを用いた場合約91%の確率でPの硬結惹起力はOTのそれより高いという。

#### 4) 結核の既往歴の明らかなものに対するPの反応について

昭和24年よりの集団検診ならびに外来診断の資料より、当学童集団中に今までに胸部有所見者として治療を、または要注意者として管理を行ってきたが、現在はなんら処置を施していない者が49名ある。これは集団の総数203名に比して24.1%にあたり、第1表にみるごとく皮膚

反応陽性率が高いことと思い合わせてもなお非常に高率といわねばならない。この49名を抽出してPとOTの反応を比較してみると第4表に示すごとく、上記集団Ⅰ、ⅡおよびⅢはいずれも既往歴ないしは被管理歴を有する学童をそれぞれ17、14および18名含み、しかも集団Ⅱ、集団Ⅲにおいても用いたPの濃度が低いにもかかわらず、判定時間内に陽性を示すものが多い。ことに集団ⅢでP 1:1,000に対して陽性を示した16例はすべて既往歴ないしは被管理歴を有する者であり、他の既往歴ないし被管理歴を有しない者はすべて紅斑値は10mm以下であった。この集団Ⅲに含まれる既往歴ないし被管理歴を有する者がP 1:1,000によって陽性と判定された百分率は88.9%であるが、いま危険率を10%としてこの百分率の信頼限界を求めると

$$\text{信頼上限} : P_1 = 1 - \frac{n_2}{n_1 F_1 + n_2},$$

$$\begin{aligned} n_1 &= 2(m+1) \\ n_2 &= 2(N-m) \end{aligned}$$

$$\text{信頼下限} : p_2 = 1 - \frac{n_1 F_2}{n_1 F_2 + n_2},$$

$$\begin{aligned} n_1 &= 2(N-m+1) \\ n_2 &= 2m \end{aligned}$$

$N$ : 全例数,  $m$ : 生じた事象の例数,  $F_1$ ,

$F_2$ :  $n_1, n_2$ に應ずる $F$ 表の数値。

より、いま

$N=18, m=16, F_1=5.74, F_2=2.40$ (5%点)であるから

$$p_1=0.98, p_2=0.69$$

となる。すなわち集団Ⅲにおいては結核の既往歴ないし被管理歴を有する者に対してP1:1,000が陽性に反応する信頼限界は危険率10%において $98\% > \frac{m}{N} > 69\%$ であるが、いまの場合はその下限だけを論ずれば足りるから、危険率5%として最低約70%を鑑別し得ることとなる。

### 総括ならびに考案

一般に結核菌々体成分の化学的ないし血清学的研究は培養ろ液のそれより少ないようであ

る。ここでは菌体浸出液の人体に対する皮膚反応原性を追求したが、前報の動物実験における

と同様200倍Pは人体においても2,000倍 OT とは等力価であることを Ratio および推計学的考察により確認した。またPの 1:200 より 1:1,000 の希釈濃度の間では、Pによる紅斑値とP接種量の対数値との間に正に相関々係および一回帰が成り立つことが実証された。

PとOTの硬結惹起力を比較すると、紅斑惹起力において等力価のPとOTを用いた場合には約91%の確率でPの硬結惹起力はOTのそれより高いといえる。飯田<sup>3)</sup>は結核菌の熱殺菌体を用いて蒸留水浸出液を作り、これより蛋白を含むが主として多糖体である画分(ワクチンA)、蛋白画分(ワクチンB)および多糖体画分(ワクチンC)を得て皮膚反応原性を検したところ、紅斑惹起力はワクチンBに特異的に高く、ワクチンA、ワクチンCともに紅斑惹起力をOTと等力価にすると硬結触知率が著しく増加したと報告している。Pには菌体の蛋白とともに多糖体をも相当多量(23.1mg/ml)に含有することよりして、おそらくこの多糖体因子のために硬結触知率が増したものと考えられ、前記飯田の結論を裏づけるものと思われる。

更に興味あることは、一般に2,000倍OTに比してきわめて弱い紅斑惹起力を有する1,000倍Pが結核の既往歴ないしは被管理歴を有する学童に対しては高率に陽性反応を惹起し

たことである。小市<sup>4)</sup>、一林<sup>5)</sup>は検診当時レ線学的に胸部に所見のあった学童および幼児の中にツ反応陰性を示す者のあることを記載しているが、今回の既往歴を確実に知り得た49例についてPにもOTにも疑陽性(一林の判定基準では-)を示す者が3例みられ、有所見者の発現に万全を期す目的ならば全員にレ線検査を行わねばならぬとする小市、一林の意見は当を得たものといえよう。

なお近時ツベルクリンおよびBCGが反復接種される結果、皮膚の反応性の変調が問題とされており<sup>6)~10)</sup>、野辺地、他<sup>11)</sup>、河盛<sup>12)</sup>らはツ反応部位を毎回変えることを提唱するに至っている。今回対象とした学童もツ反は6回—12回、BCGは0—7回の範囲に反復して接種を受けた集団であるので、反応性変調の影響を避けるため、背部皮内に左右対称に接種した。実際の成績につき検討したところ、PおよびOTによっては促進反応とみなされる例はなかったので、背部接種ではツ頻回接種による影響は除外され得たと考える。なお背部皮内接種は前腕屈側ツ常用部位に比して紅斑および硬結を計測しやすく、いずれの集団にもPおよびOTの皮内注射による激痛、水疱、溢血斑、壊死、潰瘍および発熱等の不快な副作用を起した例は認められなかった。

## 結

ヒト型結核菌々体抽出液(P)をもって、学童に皮内反応を実施し、次の成績を得た。

(1) Pの紅斑惹起力はOTのそれと明らかに正相関を示し、1:200 P 0.1mlと1:2,000 OT 0.1mlとはほぼ等力価であった。

(2) 1:200 P, 1:500 Pおよび1:1,000 Pの紅斑惹起力にはそれぞれ明らかな差が認められ、Pの希釈倍数1:200より1:1,000の範囲内ではP接種量の等比級数的増加ないし減少は紅斑値の等差級数的増大ないし減少をもたらした。

(3) Pによる紅斑値の経時的变化をみると、用いられた希釈液のいずれについても、48

## 論

時間判定値>72時間判定値>24時間判定値なる特定の関係を有し、北研OTにはこの傾向は認められなかった。

(4) PはOTに比して硬結惹起能においてまさる傾向があり、これは含有する多糖体に起因するものと考えられた。

(5) 1:1,000 Pの紅斑惹起能は結核の既往歴ないし被管理歴を有しない者に比し、有する者に対し著しくすぐれていた。

(6) Pおよび北研OTのツ非常用背部皮内接種によって促進反応は認められず、かつ不快な副作用も全く認められなかった。

## 文 献

- 1) 山本 純夫：金大結研年報, 17, 37, 1959.
- 2) 山本 純夫：金大結研年報, 17, 47, 1959.
- 3) 飯田 康衛：結核, 26(6), 284, 1951.
- 4) 小市 政男：金大結研年報, 10, 284, 1952.
- 5) 一林 なを：金大結研年報, 11, 91, 1953.
- 6) 柳沢 謙：BCGとツベルクリン,  
日本臨床社, 1948.
- 7) 野辺地慶三：文部省結核研究班報告, 1953.
- 8) 重松逸造, 他：公衆衛生, 4, 78, 1953.
- 9) 岡田 博：日本臨床結核, 16, 767, 1957.
- 10) 小池昌四郎：結核, 23(11.12), 9, 1948.
- 11) 野辺地慶三, 他：結核, 33(8), 560, 1958.
- 12) 河盛 勇造：日本医事新報, 1814, 13, 1959.

OT1:2,000およびP1:200による皮膚反応紅斑相関表

集 団	判定時間	24 時 間									48 時 間									72 時 間								
	紅斑値																											
	OT mm P	0	5	10	15	20	25	30	計	0	5	10	15	20	25	30	計	0	5	10	15	20	25	30	計			
I	0 -	8	2						10	6	4	2					12	5	6	1					12			
	5 -		12	3					15		8	4	2				14	1	8	5	1				15			
	10 -			4	18	3			25		1	21	4		1		27		1	24	3				28			
	15 -			1	4	9			14		1	3	8				12			2	6				8			
	20 -					3	1		4				2	1		3				5	1				6			
	25 -																											
	30 -						1		1							1	1											
	35 -																											
	計		8	19	25	15	2		69		6	14	30	16	1	1	1	69		6	15	32	10	5	1	69		
r±Sr		0.88±0.03								0.85±0.05								0.86±0.03										
II	0 -	8							8	7							7	6							6			
	5 -		7	11					18		2	13	1				16		6	18					24			
	10 -			1	14	10			25		2	13	12				27		1	16	9				26			
	15 -				5	5	1		11			3	10	1			14			4	4	1			9			
	20 -				2	2	1		5				1	1	1		3				4				4			
	25 -					1	1		2				2				2				1				1			
	30 -					1			1				1				1											
	35 -																											
	計		16	32	19	3			70		11	29	24	5	1		70		13	38	13	6				70		
r±Sr		0.71±0.06								0.79±0.05								0.80±0.04										
III	0 -	8							8	8							8	8							8			
	5 -		9	6					15		10	5					15		8	7					15			
	10 -			6	11				17		6	13	2				21		6	15	3				24			
	15 -			1	13	1			15			6	5				11			7	4				11			
	20 -				2	4			6			1	5				6			1	3	1			5			
	25 -					2			2				2				2											
	30 -						1		1											1					1			
	35 -												1				1											
	計		24	32	7	1			64		24	25	14	1			64		22	30	11	1				64		
r±Sr		0.78±0.05								0.80±0.05								0.71±0.06										

第2表 OTとPの皮膚反応紅斑値の比較

— 24 時間 判定 —

集 団 \ 注 射	OT 1/2,000	P			OT-P	Ratio : $\frac{P}{OT}$
		1/200	1/500	1/1,000		
I (69名)	11.23	10.99			0.24	0.98
II (70名)	11.75		7.35		4.40	0.63
III (64名)	12.19			5.75	6.44	0.47

— 48 時間 判定 —

集 団 \ 注 射	OT 1/2,000	P			OT-P	Ratio : $\frac{P}{OT}$
		1/200	1/500	1/1,000		
I (69名)	11.06	11.97			- 0.91	1.08
II (70名)	11.90		8.49		3.41	0.71
III (64名)	12.27			6.66	5.61	0.54

— 72 時間 判定 —

集 団 \ 注 射	OT 1/2,000	P			OT-P	Ratio : $\frac{P}{OT}$
		1/200	1/500	1/1,000		
I (69名)	10.56	11.45			- 0.89	1.08
II (70名)	11.03		7.98		3.05	0.72
III (64名)	11.63			6.42	5.21	0.55

第3表 PとOTによる皮膚反応硬結の比較

集 団	P と O T による 硬 結 の 現 わ れ 方		例 数	全 例 数
I	OT +	P +	19	69
	±	±	7	
	-	-	31	
	±	+	2	
	-	+	5	
	-	±	5	
II	+	+	8	70
	±	±	7	
	-	-	41	
	+	-	4	
	+	±	2	
	±	-	7	
III	+	+	6	64
	±	±	2	
	-	-	38	
	+	-	4	
	+	±	5	
	±	-	9	

第4表 結核の既往歴を有する者におけるPとOTによる皮膚反応紅斑の出現状況

集 団		I	II	III
PおよびOTの反応				
P OT	++	17	10	16
P OT	±±	・	3	・
P OT	±+	・	1	2
例 数 計		17	14	18